

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Michinobu NAKAMURA, et al.

SERIAL NO.: NEW U.S. PCT APPLICATION

FILED: HEREWITH

INTERNATIONAL APPLICATION NO.: PCT/JP99/02171

INTERNATIONAL FILING DATE: 23 April 1999

FOR: METHOD FOR PRODUCING HYDROLYZED PROTEIN

**REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119
AND THE INTERNATIONAL CONVENTION**Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

Sir:

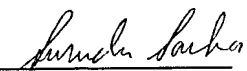
In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicant claims as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NO</u>	<u>DAY/MONTH/YEAR</u>
JAPAN	10/121029	30 April 1998
JAPAN	10/121030	30 April 1998

Certified copies of the corresponding Convention application(s) were submitted to the International Bureau in PCT Application No. **PCT/JP99/02171**. Receipt of the certified copy(s) by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.

Respectfully submitted,
OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.

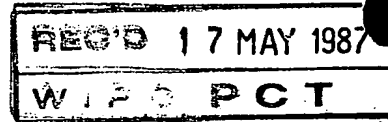
**22850**


Norman F. Oblon
Attorney of Record
Registration No. 24,618
Surinder Sachar
Registration No. 34,423

THIS PAGE BLANK (USPTO)

09/674280

PCT/JP99/02171



23.04.99

日 本 国 特 許 庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

EKJ

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application:

1998年 4月30日

出 願 番 号
Application Number:

平成10年特許願第121029号

出 願 人
Applicant(s):

味の素株式会社

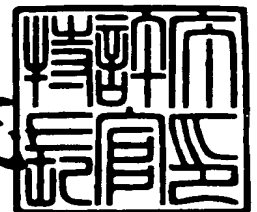
PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 1月 8日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

伴佐山 建志



出証番号 出証特平10-3104802

【書類名】 特許願

【整理番号】 PJ23363

【提出日】 平成10年 4月30日

【あて先】 特許庁長官 荒井 寿光 殿

【国際特許分類】 A23L 1/23
C07C227/28

【発明の名称】 酵素分解アミノ酸の製造法

【請求項の数】 5

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素株式会社川崎工場内

 【氏名】 細田 彰

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素株式会社川崎工場内

 【氏名】 関 光義

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素株式会社川崎工場内

 【氏名】 中村 通伸

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素株式会社川崎工場内

 【氏名】 中沢 英次

【特許出願人】

 【識別番号】 000000066

 【氏名又は名称】 味の素株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100092082

【弁理士】

【氏名又は名称】 佐藤 正年

【代理人】

【識別番号】 100099586

【弁理士】

【氏名又は名称】 佐藤 年哉

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 007629

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 酵素分解アミノ酸の製造法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 少なくとも部分的に固体状態にある蛋白を含有する蛋白原料を酵素処理により加水分解してアミノ酸を取得するに際し、酵素処理以前の蛋白原料を 300 μ m 以下に微粉碎し、80℃以上の熱水に分散して該粉碎物に随伴する空気泡沫が実質的に排除されたことを確認後、直ちに該熱水分散物を殺菌工程に付して取得する実質的に無菌状態にある蛋白原料に、実質的に微生物汚染のない蛋白加水分解酵素含有物を添加し、該酵素含有物により加水分解処理を行うことを特徴とする酵素分解アミノ酸の製造法。

【請求項 2】 前記殺菌工程がプレート式熱交換器またはノズル式加熱器による連続的処理工程であることを特徴とする請求項 1 に記載の酵素分解アミノ酸の製造法。

【請求項 3】 前記蛋白原料が小麦グルテン、コーングルテン、脱脂大豆、フィッシュ・ミール、食肉抽出物、およびこれらの処理物より成る群から選択される原料であることを特徴とする請求項 1 に記載の酵素分解アミノ酸の製造法。

【請求項 4】 前記加水分解処理を深部培養発酵槽型反応装置内で行うことを特徴とする請求項 1 に記載の酵素分解アミノ酸の製造法。

【請求項 5】 前記蛋白加水分解酵素含有物が糸状菌培養物または糸状菌培養物に由来する酵素組成物であることを特徴とする請求項 1 に記載の酵素分解アミノ酸の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は酵素分解アミノ酸の製造法に関する。さらに詳細には、固体の蛋白を含む蛋白原料を酵素による加水分解により高品質、高安定性のアミノ酸を製造する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

工業的生産規模により、固体の蛋白を含む蛋白原料を酵素によりアミノ酸を製造する方法に関しては、既に種々の方法が知られている。

【0003】

例えば特開昭51-35461号公報には、可溶性窒素指数が50以下の変性脱脂大豆にpH9~12の範囲でアルカリプロテアーゼを2時間作用せしめ、蛋白質由来の窒素成分の70%以上を可溶化抽出して固液分離を行う第1工程と、抽出された溶液にペプチダーゼを密閉容器内で40~60℃にて作用せしめて加水分解する第2工程との結合を特徴とする調味液の製造法が記載されている。

【0004】

また、特開平6-125734号公報には、微生物を固体培養した麴の有機溶媒浸漬物から得られ、上記麴の自己消化によるエキソ型ペプチダーゼ酵素を含有する酵素剤、及び動植物性蛋白質原料に、蛋白可溶化酵素を作用させ、次いで上記エキソ型ペプチダーゼ酵素含有酵素剤を作用させる蛋白調味液の製法が記載されている。

【0005】

また、特開平9-75032号公報には、醤油麴をアルコール存在下に仕込み、35~45℃で酵素分解する際に、分解終了時のアルコールの濃度を2%以下になるよう強制的に蒸散させ、この分解液を発酵熟成させる調味料の製造法が記載されている。

【0006】

さらに特開平9-121807号公報には、麴菌の培養と該麴菌の培養物に含まれる酵素による培地中の蛋白質の加水分解を食塩非存在下又は低食塩存在下で同時に、且つ一段階に実施した後、必要により固液分離することより、醤油香、醸造香がなく酸分解型調味料特有の香気を有する高グルタミン酸含有汎用調味料が記載されている。

【0007】

従来、固体の蛋白を含む蛋白原料を酵素により加水分解してアミノ酸を製造する何れの公知の方法にあっても、加水分解工程において酵素源となる微生物以外の微生物、所謂、雑菌の増殖が発生し、目的とするアミノ酸の品質および収率が

低下する問題があった。この問題の解決のために、従来の方法にあっては、加水分解工程にアルコール、食塩、酢酸エチルなどの静菌物質を共存させる方法が採用されてきた。この方法では、加水分解工程終了後に静菌物質を分離、除去する付加工程が必須となる。特に、食塩の共存を静菌手段に採用した場合には、取得されるアミノ酸の品質を低下させること無く、食塩を適当濃度以下に除去することは極めて困難であった。また、静菌物質の共存による加水分解工程から取得されるアミノ酸には、所謂、醸造臭、醤油臭の発生、随伴を回避することは不可能に近く、取得されるアミノ酸の利用範囲を著しく制限する結果となっていた。

【0008】

また、当然のことであるが、従来の方法でも、使用する固体の蛋白を含む蛋白原料あるいは酵素源となる微生物に混入、随伴する雑菌を除去、殺菌した後に、加水分解工程に付す試みが行われてきた。原料を殺菌後に蛋白加水分解反応に付す方法は、実験室的規模での実施は比較的容易とも云えるが、工業的な大規模生産の場にあつては、殺菌処理工程、蛋白加水分解工程における雑菌抑止対策等、実施に当たって、極めて困難な問題を含んでいる。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

本発明にあっては、工業的な大規模生産の場にあつても実施可能な、汎用調味料素材または汎用食品素材としての利用用途を有するアミノ酸を、静菌物質非存在下でも雑菌による汚染なく、製造、取得するために有効な方法を提供することを課題とする。

【0010】

本発明者等は上記の従来法における問題点を再検討し、解決しようとする課題に関し、鋭意研究の結果、以下の(1)～(3)の通りの新たな知見を得た。

【0011】

(1) 加水分解工程における雑菌の増殖は、固体状態にある蛋白原料および酵素源となる微生物の培養物に混在している雑菌に起因する。

【0012】

(2) 上記蛋白原料および培地の殺菌を完全に行うことが可能であれば、加水

分解工程を、実質上、雑菌の存在しない状態で実施可能である。

【0013】

(3) 上記蛋白原料および培地の殺菌は、これらに含有または随伴する空気、泡沫の存在によって著しく阻害される。換言すれば、これらに含有、随伴する空気、泡沫を完全に除去した後に加熱殺菌を行うときは、実質的に無菌状態にある蛋白原料および実質的に雑菌の汚染の無い酵素源となる微生物の培養物を取得可能である。

【0014】

【課題を解決するための手段】

本発明者等は、上記の課題を解決するために、これらの知見に基づき特許請求の範囲の各項に記載する発明を完成した。

【0015】

即ち、請求項1に記載の発明による酵素分解アミノ酸の製造法は、少なくとも部分的に固体状態にある蛋白を含有する蛋白原料を酵素処理により加水分解してアミノ酸を取得する工程において、酵素処理以前の蛋白原料を300 μ m以下に微粉碎し、80℃以上の熱水に分散して該粉碎物に随伴する空気泡沫が実質的に排除されたことを確認後、直ちに該熱水分散物を殺菌工程に付して取得する実質的に無菌状態にある蛋白原料に、実質的に微生物汚染のない蛋白加水分解酵素含有物を添加し、該酵素含有物により加水分解処理を行うことを特徴とする。

【0016】

また請求項2に記載の発明による酵素分解アミノ酸の製造法は、前記殺菌工程がプレート式熱交換器またはノズル式加熱器による連続的処理工程であることを特徴とする。

【0017】

また請求項3に記載の発明による酵素分解アミノ酸の製造法は、前記蛋白原料が小麦グルテン、コーングルテン、脱脂大豆、フィッシュ・ミール、食肉抽出物およびこれらの処理物より成る群から選択される原料であることを特徴とする。

【0018】

また請求項4に記載の発明による酵素分解アミノ酸の製造法は、前記加水分解

処理を深部培養発酵槽型反応装置内で行うことを特徴とする。

【0019】

また請求項5に記載の発明による酵素分解アミノ酸の製造法は、前記蛋白加水分解酵素含有物が糸状菌培養物または糸状菌培養物に由来する酵素組成物であることを特徴とする。

【0020】

【発明の実施の形態】

本発明において使用する原料は、少なくとも部分的に固体状態にある蛋白を含有する蛋白原料である。すなわち、粉末、顆粒、小片、水性溶媒中に分散状態にある分散液あるいはペースト状態にある可食性の蛋白を高含量に含有する蛋白原料である。その由来には限定されることなく、植物性あるいは動物性の蛋白原料が等しく使用可能である。

【0021】

蛋白原料については以下の原料が例示される。即ち、植物性蛋白原料としては小麦グルテン、コーングルテン、脱脂大豆、分離大豆蛋白、馬鈴薯分離蛋白、およびこれらの植物性蛋白原料の処理物である。これら各種の植物性蛋白原料のうち、小麦グルテン、脱脂大豆は、本発明において特に重要な蛋白原料である。

【0022】

動物性蛋白原料としてはフィッシュ・ミール、ゼラチン粉末、乳糖蛋白、脱脂粉乳、食肉加工時に副生する食肉抽出物、魚貝類の加工時に副生する水産物抽出物、およびこれらの動物性蛋白原料の処理物、特に脱脂処理物である。これら各種の動物性蛋白原料の内、脱脂フィッシュ・ミール、乳糖蛋白は、本発明において特に重要な蛋白原料である。

【0023】

酵素処理により蛋白原料を加水分解する処理は、水性溶媒中に分散した殺菌処理を行った蛋白原料および蛋白加水分解活性の高い酵素含有物を、該酵素の活性温度範囲域内および活性pH範囲域内の条件下に所定時間、接触させる工程である。

【0024】

蛋白原料は蛋白加水分解処理工程に付す以前に、 $300\mu\text{m}$ 以下に微粉碎し、 80°C 以上の熱水に分散される。蛋白原料の微粉碎は、乾燥状態にある蛋白原料について実施してもよいが、予め粗粉碎してある蛋白原料を熱水に分散する処理と同時にを行うと、後続する殺菌工程に連続的に移行することが可能となり好都合である。

【0025】

微粉碎の条件および分散する熱水の温度条件は、多種類の蛋白原料について多数回に及ぶ試行を行った結果に基づき、帰納的に決定された。これらの条件の範囲内で、可及的に微粉碎を行い沸点前後の高温処理を行う場合には、後続する殺菌工程において好ましい殺菌効果を期待し得る。

【0026】

すなわち、 $300\mu\text{m}$ 以上の粒子を混在する分散液を熱交換機で処理すると、熱交換機内で分散液中の蛋白原料粒子の沈降が生じ、機内流路に閉塞を起こす危険がある。従って、殺菌処理は実際上不可能となって仕舞う。

【0027】

一方、蛋白原料の微粒子を分散している分散液は、 80°C 以上でその粘度が急激に低下する現象を見出している。

【0028】

図1は、 $60\sim 90^{\circ}\text{C}$ の温度範囲で分散濃度32%の熱水分散小麦グルテン分散液の粘度と温度との関係を示す折れ線図である。図1において、縦軸は 10^4cp （センチポアズ）を単位とする等間隔で表示する粘度を、横軸は $^{\circ}\text{C}$ を単位とする等間隔で表示する温度を示す。この例では $80\sim 85^{\circ}\text{C}$ の間に顕著な粘度の低下が発生していることを看取出来る。

【0029】

本発明の技術的進歩性の一つは、まさにこの点に存在する。すなわち、特定温度範囲の蛋白原料分散液の粘度の急激な低下によるハンドリング性の顕著な向上と効果的な加熱殺菌とを結合したことである。

【0030】

蛋白原料に上記の微粉碎および熱水分散処理を行うと、蛋白原料の分散液は、

多くの場合、乳化状態を呈する。しかし、分散液の粘度は上昇することなく、却ってサラサラした低粘度液性に変化する。このため、処理後の分散液には空気、気泡が取り込まれることもない。

【0031】

蛋白原料を微粉碎し熱水に分散する処理には、目的に合致する任意の方法および装置を採用することが出来る。例えば、粉末状の蛋白原料を予め所定の温度に維持してある水性溶液を収容してあるタンクに供給し、攪拌しながら乳化装置に供給し、乳化、分散する方法を採用することが出来る。

【0032】

分散処理に関し、重要なことは分散処理後の分散液中に存在する蛋白原料の微粒子に空気、気泡が付着、随伴していないことを確認することである。確認に当たっては、分散処理後の分散液を顕微鏡弱拡大視野下に観察し、分散している微粒子に気泡の付着が実質的に観察されないことおよび分散している微粒子が液相部分と直接に接触していることを確認すればよい。

【0033】

もし、分散処理後の分散液中に気泡が混在する場合には、後続する殺菌工程において高温処理を施した場合にあっても、所期の殺菌効果を期待し得ない。また殺菌処理装置の運転の際に、閉塞などの重大な支障を発生する危惧もある。

【0034】

分散液中に気泡が混在する場合には殺菌を完全に行い得ない理由は、殺菌処理装置内での熱の分布が均一に及び難いことに加えて、気泡に包接された雑菌菌体や雑菌の芽胞に対し、熱が効果的に作用し得ないことによると推定される。

【0035】

熱水に分散した蛋白原料は、分散処理後、工程を連続して殺菌工程に付す。殺菌工程の方法および使用する装置については特に限定はないが、連続殺菌方法あるいは加水分解反応装置内でのバッチ式殺菌方法は、全工程を円滑に実施するために有用な方法である。尚、この殺菌処理により蛋白原料分散液は、実質上、無菌状態となる。また、必要により試料を採取して無菌状態となったことを確認してもよい。

【0036】

連続殺菌のために使用する装置としては、プレート式熱交換器またはノズル式加熱器が特に適当である。上記の方法により調製され気泡の混在の無いことを確認した蛋白原料の熱水分散液は、これらの加熱殺菌処理装置で通常の運転条件下に処理されるときは、装置内での閉塞、焦げ付きなどの事故を発生することは無い。また、処理終了後に行う装置の洗浄、保守処置も極めて容易である。

【0037】

加水分解反応に使用する蛋白加水分解酵素含有物としては、除菌処理を施した既成の蛋白加水分解酵素調製品を使用することも出来るが、生産する蛋白加水分解酵素活性を予測出来る蛋白加水分解酵素生産能の高い微生物から新たに調製した微生物培養物が適当である。

【0038】

蛋白加水分解酵素生産能の高い微生物としては、その分類学上の位置を問うことなく、各種の微生物を利用出来るが、目的とする製品が食品用途であることを考慮して、従来より食品分野あるいは醸造分野で利用されてきた微生物が適当である。特に糸状菌、就中、麴菌あるいは食用枯草細菌が適当である。また、麴菌を使用した場合、蛋白加水分解反応を実施する際の工程管理が容易であり、また取得する反応生成物の精製、後処理が容易であることから、好ましい微生物として利用される。

【0039】

これらの微生物は、市販の米麴、醤油醸造用麴あるいは納豆、納豆製造用種菌から新たに分離し菌株特性を固定した菌株を使用してもよい。また、これらの微生物の寄託保存株を使用してもよい。なお、何れの場合も、使用に先立って使用菌株には、雑菌が混在していないことを確認する必要がある。

【0040】

加水分解反応に使用する蛋白加水分解酵素含有物は、通常、液体麴の形態で殺菌済の蛋白原料分散液に添加、混合される。液体麴を構成する原料は、加水分解すべき蛋白原料と同一であっても相違していてもよいが、調製した液体麴の中に雑菌が混在してはならない。このため、液体麴用の蛋白原料の殺菌には、特に注

意を払う必要がある。また、液体麴用原料は、本発明の特徴の一つである微粉碎した蛋白原料を熱水に分散した分散液を使用することにより、容易且つ完全に、殺菌処理を実施し得る。

【0041】

加水分解反応には何の様な反応装置を使用して実施してもよいが、蛋白加水分解酵素含有物として液体麴を使用する場合には、反応系内の温度、通気、攪拌などの諸要件を十分に制御可能な装置を使用する必要がある。このため、深部培養発酵槽型反応装置が適当な反応装置として選択される。

【0042】

深部培養発酵槽型反応装置としては、従来、各種のアミノ酸の生産発酵または試験発酵に使用されている発酵槽を、その儘、あるいは軽微な改変を施して転用することが可能である。

【0043】

加水分解反応により取得される酵素分解アミノ酸は、その儘でも調味料素材として利用されるが、多くの場合、脱色、脱臭処理、例えば活性炭処理、あるいは濃縮処理などの精製処理を経過して製品とする。あるいは利用目的に応じて、濃縮ペースト、微フレーク状粉末、噴霧乾燥粉末、顆粒、キューブ状ブロックに加工して製品とする。なお、酵素分解アミノ酸中に食塩を実質上含有していないことは、製品の汎用性を拡大し、また精製処理および加工処理を容易且つ効果的に実施するために極めて有効な特性であると認められる。

【0044】

以下、本発明の具体的な実施例を説明する。なお、以下の各実施例は本発明の技術範囲を限定するものではない。

【0045】

【実施例】

実施例 1 = 小麦グルテンよりアミノ酸の製造 (1) =

(小麦グルテンの乳化前処理)

衝撃剪断方式による乳化処理を行う乳化機、ホモミックスラインミル [特殊機械工 (株) 製品] に接続した 1000 L 容のタンクに市水 400 L を導入した。該

タンク中の水を加熱し水温が95℃に達した時に同乳化機の運転を開始し、タンク中に活性小麦グルテンの粉末20kgを投入した。運転開始後、30分間で小麦グルテンは完全に乳化状態の分散液となり、小麦グルテン特有の粘弾性は消失した。また、分散液には、弱拡大顕微鏡視野下で小麦グルテンの凝塊（所謂、ダマ）の混入および気泡の取込みは、全く、認め得なかった。

【0046】

該乳化分散液中の小麦グルテン粒子の平均粒径は150μm（最小10μm～最大900μm）であり、小麦グルテン粒子の濃度は50g/Lであった。

【0047】

（液体麴用脱脂大豆の前処理）

未変性脱脂大豆〔東洋製油（株）製品〕を粗粉碎した脱脂大豆粉末を、加熱操作の可能な混合機により混合しながら加熱し、98℃にて20分間、乾熱加熱処理を行った。

【0048】

（液体麴用脱脂大豆の殺菌処理）

上記の加熱処理した脱脂大豆粉末3kgを、アミノ酸生産用深部培養発酵槽型反応装置中に導入してある水温25℃の市水200L中に攪拌しながら投入し、気泡の取込みがない均一な脱脂大豆粉末分散液を取得した。次いで、該分散液を120℃で20分間、過熱水蒸気によるバッチ方式加熱殺菌を行った。

【0049】

（液体麴の調製）

この加熱殺菌した脱脂大豆粉末分散液に、予め2%濃度に殺菌脱脂大豆粉末を分散した培地に分離孢子から生育させた麴菌アスヘルギルス・オリゼ（*Aspergillus oryzae*, ATCC 15240）の種菌培養液1（容量）%量を植菌した。植菌後、1/4vvmの通気および520rpm攪拌下に、30℃にて24時間培養して雑菌汚染のない液体麴を取得した。取得した液体麴のプロテアーゼ活性は、320単位/mLであった。

【0050】

（小麦グルテンの加水分解）

上記の方法により取得した乳化状態にある小麦グルテンの分散液の全量を、アミノ酸生産発酵に使用している 1 k L 容の発酵槽に移行した。次いで該小麦グルテンの分散液を 120℃ で 20 分間、過熱水蒸気により加熱するバッチ方式で加熱殺菌した。殺菌後の分散液には顕微鏡拡大視野下で気泡の存在を認め得なかった。加熱殺菌後、同分散液の液温が 50℃ まで低下した時に、上記の液体麴の半量を添加し、緩やかな攪拌下、液温を 45℃ に制御して 24 時間、酵素反応による加水分解処理を行った。24 時間反応後の加水分解反応液中には雑菌の混入、増殖は認め得なかった。

【0051】

(小麦グルテン加水分解物の後処理)

取得した小麦グルテン加水分解物は、麴菌の菌体を分散している比較的透明で低粘度、淡黄色の液体であった。該加水分解物を遠心分離により麴菌の菌体を分別、除去後、醸造用活性炭層を流下して脱色、脱臭処理した。この精製液を減圧下に濃縮後、噴霧乾燥した。噴霧乾燥物の得量は 18 k g であった。

【0052】

(小麦グルテン加水分解物の噴霧乾燥物の評価)

取得した小麦グルテン加水分解物の噴霧乾燥物は、ほぼ無臭の淡黄色、均一の粉末であり、濃厚で好ましい旨味を有する。分析の結果、食塩は、実質上、検出し得なかった。また、培養試験の結果、混入菌は、実質上、検出されなかった。総合評価として、本小麦グルテン加水分解物の噴霧乾燥物は、各種の用途に適合可能な旨味調味料素材、旨味食品素材としての好ましい特性を有していると判断された。

【0053】

(対照として試作した小麦グルテン加水分解物の噴霧乾燥物の評価)

上記と同一の条件下に調製した活性小麦グルテンの微粉末を、熱水による分散前処理を行うことなく、直接に 25℃ の市水に分散し、以下、上記の方法及び工程に準じて加熱殺菌を行った。この殺菌後の分散液には、肉眼視野下でダマの生成が観察され、また、顕微鏡拡大視野下で、僅少ながら気泡の存在（抱き込み）を認めた。加水分解および噴霧乾燥を行って、対照の小麦グルテン加水分解物の

噴霧乾燥物を取得した。該対照品には、特異の臭気および嫌味性があり、相当程度の混入菌が検出された。

【0054】

(小麦グルテン加水分解物液および同対照加水分解物液の比較並に評価)

上記の小麦グルテン加水分解物液および同対照加水分解物液の比較並に評価の結果を表1に示す。

【0055】

【表1】

小麦グルテン加水分解物液および同対照加水分解物液の比較並びに評価

	処 理	微生物	評 価	
	熱水前処理の有無	他の微生物の混入	うま味	香 気
小麦グルテン加水分解物液	有り	無し、検出せず	濃厚良質	良好
対照加水分解物液	無し	有り* 10 ⁵ -10 ⁷ 個/ml	好ましくない	不良

*乳酸菌、枯草菌、一般腐敗菌など

【0056】

表1に示す通り、本実施例における小麦グルテン加水分解物液は、調味料素材として優れた旨味および香気を有していた。一方、同対照加水分解物液には、麹菌以外の微生物の混入は顕著であり、調味料素材として適当であるとは認め難いと判断された。

【0057】

実施例2＝小麦グルテンよりアミノ酸の製造(2)＝

実施例1の方法および工程に準じ、下記の通り小麦グルテンの乳化分散液の殺菌工程を特定して、実施例1と同一の活性小麦グルテンより、実施例1で取得したものと同程度の高品質の小麦グルテン加水分解物を取得した。

【0058】

(小麦グルテンの乳化分散液の殺菌)

実施例1と同一の方法により、95℃の熱水で処理した活性小麦グルテン乳化分散液（グルテン濃度50g/dL）をプレート式熱交換機（使用プレート：高耐性タイプのフリーフロープレートN40、株式会社イズミフードマシナリー製品）を使用し、プレート内の線速度0.35m/秒、加熱温度125℃、20分の条件下に、間接加熱連続殺菌処理を行った。この連続殺菌処理工程では、プレート内でのスケリングあるいは閉塞などの支障は全く発生せず、円滑に該工程を進行、完了することができた。また、増強培養試験によって、殺菌処理後の小麦グルテンの乳化分散液中には、微生物の存在は確認されず、完全に殺菌が行われたことを確認した。なお、殺菌処理後、使用したプレートの表面に若干量のスケールの沈着を認めたが、該スケールについては、通常のスケーリング剤の使用により、極めて容易に除去可能であることを確認した。

【0059】

（対照小麦グルテンの乳化分散液の殺菌）

95℃の熱水による分散処理を行わず、25℃の市水に分散処理した活性小麦グルテン乳化分散液を、上記と同一のプレート式熱交換機により同一条件下に、間接加熱連続殺菌処理を行うべく通液したが、通液後間もなくプレート内に閉塞が発生し、殺菌不能となった。

【0060】

（小麦グルテンの加水分解）

プレート式熱交換機を使用して殺菌処理したグルテン分散スラリー500Lを1000L容の完全殺菌済の発酵槽に導入し、実施例1の方法に準じて調製した麹菌以外の微生物の存在しないプロテアーゼ高活性の酵素培養液100Lを添加し、実施例1の方法に準じて、緩やかな攪拌下、液温を45℃に制御して24時間、酵素反応による加水分解処理を行った。

【0061】

（小麦グルテン加水分解物の後処理）

取得した小麦グルテン加水分解物に実施例1に準じ活性炭粉末を添加し、60分間攪拌後、遠心分離により麹菌菌体および活性炭を分離、除去し、淡黄色、透明の加水分解液を取得した。該加水分解液を、減圧下、含有する全窒素が3%に

達する迄、濃縮した。この濃縮液は強いうま味を有し、調味液素材として有用であることを確認した。

【0062】

実施例4＝脱脂大豆よりアミノ酸の製造＝

(液体麴用脱脂大豆の前処理)

未変性脱脂大豆を粉碎機により、粒径250～350 μ mに微粉碎した脱脂大豆粉末20gを95℃の熱水1Lに投入し、10分間、ミキサー内で高速攪拌した。熱水処理により大豆蛋白の変性が発生し、高速攪拌により脱脂大豆粉末に吸着または取込まれていた気体、気泡は完全に分離、除去された結果、脱脂大豆粉末を含む分散液の性質は変化し、粘性およびゲル化性のないサラサラした液性の均質な分散液となった。

【0063】

(液体麴用脱脂大豆分散液の加熱殺菌処理)

上記の分散液をアミノ酸生産試験発酵に使用している5L容の発酵槽、ジャーファメンター内に収容し、発酵槽の容器部分ごとオートクレーブで120℃、20分間の加熱条件下、過熱水蒸気加熱殺菌を行った。

【0064】

(液体麴の調製)

この加熱殺菌した脱脂大豆分散液に、プロテアーゼ生産活性の高い麴菌アスヘルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*, ATCC 15240) の胞子を10⁴個/mL濃度になる様に接種した。その後、30℃に維持し、24時間、通気攪拌培養した。取得した液体麴は所期の高プロテアーゼ活性を有し、また、そのプロテアーゼ活性も安定であった。本液体麴には麴菌以外の微生物の存在は認められず、実質的に麴菌の純粋培養物と認めた。

【0065】

(対照液体麴の調製)

上記の微粉碎処理および熱水処理を施さない脱脂大豆分散液を、オートクレーブ内で上記と同一の加熱条件下、蒸気加熱殺菌した。この加熱殺菌した脱脂大豆分散液に上記と同一の麴菌胞子を同一濃度になる様に接種し、同一条件下に培養

した。取得した対照の液体麴のプロテアーゼ活性は所期の力価に達せず、また、そのプロテアーゼ活性も時間の経過に従って低下した。さらに本液体麴には麴菌以外の微生物の混入が著しいことを認めた。

【0066】

表2に上記の液体麴および対照液体麴の調製前の処理条件並びに取得した液体麴の性質を比較して示す。

【0067】

【表2】

脱脂大豆分散液体麴および同対照液体麴の比較

区分	No.	殺菌前処理		取得した液体麴の状態、性質	
		粉碎の有無 粉末の粒径	熱水処理+ 処理条件	麴菌以外の存在 (個/mL)	プロテアーゼ活性 (単位/mL)
試験 液体 麴	1	有り 50-150 μ m	有り 95℃、10分	無し 未検出	250-260
	2	有り 50-150 μ m	無し 常温処理	有り 10 ³	100-240
対照 液体 麴	3	無し フレクの儘	有り 95℃、10分	有り 10 ²	100-200
	4	無し フレクの儘	無し 常温処理	有り 10 ⁶	50-100

【0068】

表2に示す通り、原料脱脂大豆を微粉碎後、熱水処理、次いでオートクレーブ内で加熱殺菌した脱脂大豆分散液に麴菌を培養した液体麴では、麴菌以外の微生物の混入、増殖を全く認め得ず、プロテアーゼ活性は対照の液体麴が有する同活性の5倍以上に達していることを認めた。

【0069】

(脱脂大豆の加水分解)

上記と同一の未変性脱脂大豆を微粉碎後、加水、熱水処理、次いでオートクレーブ内で加熱殺菌した脱脂大豆分散液を、アミノ酸生産試験発酵に使用している5L容の発酵槽に収容し、120℃、20分間水蒸気加熱により、バッチ方式で加熱殺菌を行った。加熱殺菌後、同分散液の液温が50℃まで低下した時に、上記の液体麴の半量を添加し、攪拌通気下、液温を45℃に制御して24時間、酵

素反応による加水分解処理を行った。

【0070】

(脱脂大豆の加水分解物液の後処理)

取得した脱脂大豆の加水分解物は、麹菌の菌体を分散している比較的透明で低粘度、淡黄色の液体であった。該加水分解物液を遠心分離により麹菌の菌体を分別、除去後、醸造用活性炭を充填した脱色炭層中を流下して脱色、脱臭処理を行った。

【0071】

(脱脂大豆加水分解物の評価)

脱色、脱臭処理後の脱脂大豆加水分解物液は、無臭、淡黄色の透明な液体で、濃厚で好ましい旨味を有する。大豆臭は全く感知で出来なかった。分析の結果、食塩は、事実上、検出されなかった。また、培養試験の結果、混入菌は、事実上、検出されなかった。総合評価として、本脱脂大豆加水分解物液は、各種の用途に適合可能なうま味調味料素材、うま味食品素材としての特性を有していると判断された。

【0072】

実施例5＝種々の動植物起源の蛋白原料よりアミノ酸の製造＝

(蛋白原料の粉碎処理)

何れも粉末状態あるいは顆粒状態にある乳精蛋白、豚皮ゼラチン、大豆分離蛋白、小麦グルテン、白色フィッシュ・ミール（カタクチイワシ・ミールの熱含水エタノール脱脂乾燥品）および硬いゲル・ペースト状態にあるスケソウダラすり身（洋上冷凍品）を粉碎機または高速ブレンダーを使用して、粉碎後の粒子の粒径が250～350 μ mになる様に粉碎した。

【0073】

(粉碎した蛋白原料の前処理加熱、分散処理および加熱殺菌処理)

上記の粉碎した蛋白原料、各10gを大型の蓋付き試験管に分取し、沸騰水浴中で30分間加熱処理した。加熱処理後、蓋付きの小型擂砕機中で、再度、磨砕し、沸騰後放冷した水道水を各100mLを添加、攪拌し、各蛋白原料の分散スラリー液を取得した。これらの分散スラリー液は、何れも結着性、ゲル化性ある

いは粘性が殆ど無く、サラサラした液性を有していた。また、気泡の取込みも認められなかった。分散スラリー液を、各々、500 mL容の綿栓をした殺菌済の振盪フラスコ内に移行し、オートクレーブ中、115℃で20分間、加熱殺菌を行った。

【0074】

(各種蛋白原料の加水分解)

蒸気加熱殺菌後、室内に放冷し、実施例1の方法に準じて調製した液体麴を、各フラスコ当たり50 mL添加した。添加後、直ちに45℃に維持した環境中で24時間、振盪培養条件下に保持して加水分解反応を行った。

【0075】

(加水分解物液の後処理)

各フラスコに醸造用活性炭粉末を各1 g宛添加し、軽く振盪後、予め殺菌した褶付き濾紙上に注ぎ、濾過区分として各々の加水分解物液を取得した。各々の加水分解物液とも淡黄色の透明な液体であり、濃厚で好ましい呈味を有していた。また、各加水分解物液とも、特異な嫌味あるいは臭気は認められなかった。

【0076】

(対照加水分解物液の試作)

上記と同一の各種蛋白原料を、前処理の加熱処理は省略し、他の処理工程は上記と全く同様に行って各種蛋白原料に由来する対照加水分解物液を試作した。

【0077】

(各種蛋白原料の加水分解物液と同対照加水分解物液の比較、評価)

上記の各種蛋白原料の加水分解物液と同対照加水分解物液について、それらの処理上の相違点、取得した加水分解物液の品質、加水分解物液中に存在する混入微生物の有無およびその存在濃度を纏めて、表3に示す。

【0078】

【表3】

各種蛋白原料の加水分解物液と同対照加水分解物液の比較、評価

区分	試験 No.	蛋白原料	前処理	取得した加水分解物液の状態、性質			
			殺菌前 熱処理の有無	呈味性	嫌味臭 の有無	麹菌以外 の存在	麹菌以外 の存在数 (個/mL)
試験加水 分解物液	1	乳精蛋白	有り	良好	無し	未検出	実質上0
	2	豚皮ゼラチン	有り	良好	無し	未検出	実質上0
	3	大豆分離 蛋白	有り	良好	無し	未検出	実質上0
	4	小麦グルテン	有り	良好	無し	未検出	実質上0
	5	白色フィッシュ ミール *	有り	良好	無し	未検出	実質上0
	6	すり身 **	有り	良好	無し	未検出	実質上0
対照加水 分解物液	7	乳精蛋白	無し	やや 良好	乳酪臭	有り	10 ⁴
	8	豚皮ゼラチン	無し	やや 良好	獣肉臭	有り	10 ³
	9	大豆分離 蛋白	無し	不良	大豆臭	有り	10 ⁷
	10	小麦グルテン	無し	不良	微 臭	有り	10 ⁷
	11	白色フィッシュ ミール *	無し	不良	魚腥臭	有り	10 ⁶
	12	すり身 **	無し	不良	魚腥臭	有り	10 ⁶

* 白色フィッシュミール：カタクチイワシ・ミールの熱含水エタノール脱脂乾燥品

** すり身：スケソウダラすり身の洋上冷凍品

【0079】

(各種蛋白原料の加水分解物液の評価)

表3に示す通り、乳精蛋白、豚皮ゼラチン、大豆分離蛋白、小麦グルテン、白色フィッシュ・ミール（カタクチイワシ・ミールの熱含水エタノール脱脂乾燥品）および硬いゲル・ペースト状態にあるスケソウダラすり身（洋上冷凍品）などの各種蛋白原料から取得した加水分解物液は濃厚で好ましい呈味を有する。また、これらの加水分解物液には特異な嫌味あるいは臭気は認められなかった。さらに混入微生物の存在は、実質上、認められなかった。

【0080】

【発明の効果】

以上に説明した通り、本発明の方法では、少なくとも部分的に固体状態にある

蛋白を含有する実質上無菌状態に保持した各種の蛋白原料に、実質的に純粹培養の状態で培養した蛋白加水分解活性の高い微生物を接触させて蛋白加水分解反応を実施することが可能となったので、食塩などの副生物を含まず、また、異味、異臭を伴わない高品質の酵素分解アミノ酸を工業的規模により取得可能となったと云う効果がある。なお、本発明の方法で製造する酵素分解アミノ酸は、用途に制限なく使用可能な汎用調味料の素材として極めて有用な製品である。

【図面の簡単な説明】

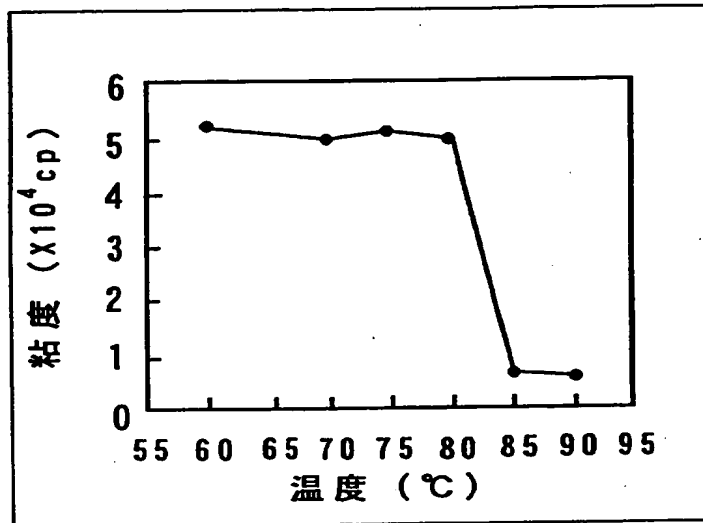
【図 1】

蛋白原料分散液の粘度と処理温度との関係を示す折れ線図である。

【書類名】

図面

【図1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 固体の蛋白を含む蛋白原料より、酵素による加水分解により高品質、且つ、食塩の混入のないアミノ酸を取得する。

【解決手段】 固体の蛋白を含む蛋白原料を酵素処理以前の工程で蛋白原料を300 μ m以下に粉碎し、80℃以上の熱水に分散して該分散物に随伴する空気泡沫が排除されたことを確認後、直ちに該熱水分散物を殺菌工程に付して取得する実質的に無菌状態にある蛋白原料に、実質的に微生物汚染のない蛋白加水分解酵素含有物を添加し、該酵素含有物により加水分解処理を行う。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000000066

【住所又は居所】 東京都中央区京橋1丁目15番1号

【氏名又は名称】 味の素株式会社

【代理人】 申請人

【識別番号】 100092082

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門1丁目21番19号 秀和第2虎
ノ門ビル 三和国际特許事務所

【氏名又は名称】 佐藤 正年

【代理人】

【識別番号】 100099586

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門1丁目21番19号 秀和第2虎
ノ門ビル 三和国际特許事務所

【氏名又は名称】 佐藤 年哉

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000000066]

1. 変更年月日 1991年 7月 2日

[変更理由] 住所変更

住 所 東京都中央区京橋1丁目15番1号

氏 名 味の素株式会社